

«УТВЕРЖДАЮ»
 Декан биологического факультета МГУ
 Академик М.П.Кирпичников
 2021 г.



Рабочая программа дисциплины (модуля)

1. Код и наименование дисциплины (модуля): **«Молекулярно-генетические методы в гидробиологии» «Molecular methods in hydrobiology»**
2. Уровень высшего образования – подготовка научно-педагогических кадров в аспирантуре.
3. Направление подготовки – **06.06.01 Биологические науки**. Направленность (профиль) программы – **Гидробиология**.
4. Место дисциплины (модуля) в структуре ООП: вариативная часть ООП (весенний семестр), спецкурс по выбору (читается на кафедре общей экологии и гидробиологии).
5. Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю), соотнесенные с планируемыми результатами освоения образовательной программы (компетенциями выпускников).

Формируемые компетенции (код компетенции)	Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю)
<i>УК-1: Способность к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях</i>	Владеть: навыками анализа методологических проблем, возникающих при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В1 (УК-1) Владеть:

	достижений и результатов деятельности по решению исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код B2 (УК-1)
УК-2 <i>Способность проектировать и осуществлять комплексные исследования, в том числе междисциплинарные, на основе целостного системного научного мировоззрения с использованием знаний в области истории и философии науки.</i>	Знать: методы научно-исследовательской деятельности Код 31 (УК-2)
УК-3: <i>Готовность участвовать в работе российских и международных исследовательских коллективов по решению научных и научно-образовательных задач</i>	Владеть: технологиями оценки результатов коллективной деятельности по решению научных и научно-образовательных задач, в том числе ведущейся на иностранном языке Код B2 (УК-3)
УК-4: <i>Готовность использовать современные методы и технологии научной коммуникации на государственном и иностранном языке</i>	Владеть: навыками анализа научных текстов на государственном и иностранном языках Код B1 (УК-4) Знать: стилистические особенности представления результатов научной деятельности в устной и письменной форме на государственном и иностранном языках Код 32 (УК-4)
ОПК-1 <i>Способность самостоятельно осуществлять научно-исследовательскую деятельность в соответствующей профессиональной области с использованием современных методов исследования и информационно-коммуникационных технологий</i>	Уметь: собирать, отбирать и использовать необходимые данные и эффективно применять количественные методы их анализа

Оценочные средства для промежуточной аттестации по дисциплине (модулю) приведены в Приложении.

6. Объем дисциплины (модуля) составляет 2 зачетных единицы, всего 72 академических часа, из которых 24 часа составляет контактная работа аспиранта с преподавателем (24 часа занятий лекционного типа) и 48 часов составляет самостоятельная работа аспиранта (выполнение домашних заданий и написание реферата).

7. Входные требования для освоения дисциплины (модуля), предварительные условия:

ЗНАТЬ: основы общей микробиологии, молекулярной биологии, основы общей экологии и гидробиологии (на уровне программ специалиста/магистра); теоретические и методологические основы функционирования и воспроизведения биологических систем.

УМЕТЬ: применять молекулярно-биологические подходы при анализе живых систем, решать задачи, требующие молекулярно-биологического подхода; читать и реферировать научную литературу в области молекулярных методов при идентификации гидробионтов, в том числе на иностранных языках, при условии соблюдения научной этики и авторских прав.

ВЛАДЕТЬ: современными информационно-коммуникационными технологиями, иностранным языком.

8. Образовательные технологии: классические лекционные технологии.

9. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам (разделам) с указанием отведенного на них количества академических часов и виды учебных занятий

Наименование и краткое содержание разделов и тем дисциплины (модуля), форма промежуточной аттестации по дисциплине (модулю)	Всего (часы)	В том числе								
		Контактная работа (работа во взаимодействии с преподавателем), часы из них					Самостоятельная работа обучающегося, часы из них			
		Занятия лекционного типа	Занятия семинарского типа	Групповые консультации	Индивидуальные консультации	Учебные занятия, направленные на проведение текущего контроля успеваемости, коллоквиумы, практические контрольные занятия и др)*	Всего	Выполнение домашних заданий	Подготовка рефератов и т.п.	Всего
ВВЕДЕНИЕ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. Обзор основных молекулярно-генетических методов, применяемых в гидробиологии. Ведение в проблему, термины и определения.	18	6					6	12		12
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА FISH ГИБРИДИЗАЦИИ НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ ТАКСОНОМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА. Принцип метода (схема), типичный протокол при использовании FISH, подбор оптимальных условий при проведении гибридизации, выбор зондов, проблемы метода. Методы визуализации с помощью эпифлуоресцентной микроскопии.	20	8					8	12		12

МЕТОД ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ (ПЦР). История и применение ПЦР. Выделение ДНК. Основные циклы. Подбор праймеров. Визуализация полученного материала с помощью электрофореза в агарозном геле. Выбор и сдача образцов на секвенирование.	14	4					4	10		10
ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ СЕКВЕНИРОВАННЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ОЗНАКОМЛЕНИЕ С РАБОТОЙ NCBI. ПОСТРОЕНИЕ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ ДЕРЕВЬЕВ.	20	6					6	14		14
Промежуточная аттестация - зачет										
Итого:	72	24					24	48		48

10. Учебно-методические материалы для самостоятельной работы аспирантов.

Конспекты лекций, файлы презентаций лекций, основная и дополнительная учебная литература (см. п.11)

11. Ресурсное обеспечение:

Основная литература:

1. Молекулярная биология клетки./ Б. Альбертс и др. М. Ижевск : Ин-т компьютер. исслед.: R&C Dynamics, 2013, в трех томах.
2. Рыбчин В.Н. Основы генетической инженерии. СПб.: ГТУ, 1999.

3. Ребриков Д.В., Саматов Г.А., Трофимов Д.Ю., Семёнов П.А., Савилова А.М., Кофиади И.А., Абрамов Д.Д. ПЦР «в реальном времени». 2-е изд. / Под ред. Д. В. Ребрикова. М.: БИНОМ Лаборатория знаний, 2009.
4. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Д. Молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984. 480 с.
5. Турова Т.П. Применение методов геносистематики для решения вопросов таксономии и изучения биоразнообразия прокариот. Москва. 2009. Дис.д.б.н. 327с.
6. Koksharova O., Schubert M., Shestakov S., Cerff R. Genetic and biochemical evidence for distinct key functions of two highly divergent GAPDH genes in catabolic and anabolic carbon flow of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. Plant Mol. Biol. 1998. V. 36. P. 183-194.

Зарубежные журналы и библиографические базы данных, доступные через Интернет
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Описание материально-технической базы.

Кафедра общей экологии и гидробиологии биологического факультета МГУ располагает необходимым лабораторным оборудованием, компьютерами, проекторами и экранами, аудиоаппаратурой.

12. Язык преподавания: русский

13. Преподаватель (преподаватели): в.н.с. кафедры общей экологии и гидробиологии Т.А. Белевич и асс. Т.Р.Кравцова.

 — 

Оценочные средства для промежуточной аттестации по дисциплине (модулю) «Применение современных молекулярно-генетических методов в гидробиологии» на основе карт компетенций выпускников.

РЕЗУЛЬТАТ ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю)	КРИТЕРИИ и ПОКАЗАТЕЛИ ОЦЕНИВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТА ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю), баллы БРС					ОЦЕНОЧНЫЕ СРЕДСТВА
	1, 0	2 1-29	3 30-59	4 60-89	5 90-100	
Владеть: навыками анализа методологических проблем, возникающих при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В1 (УК-1)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Владеть: навыками критического анализа и оценки современных научных достижений и результатов деятельности по решению исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В2 (УК-1)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- - индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Знать: методы научно-исследовательской деятельности Код З1(УК-2)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Владеть:	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат,

технологиями оценки результатов коллективной деятельности по решению научных и научно-образовательных задач, в том числе ведущейся на иностранном языке Код В2(УК-3)						зачет
Знать: стилистические особенности представления результатов научной деятельности в устной и письменной форме на государственном и иностранном языках Код 32(УК-4)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Владеть: навыками анализа научных текстов на государственном и иностранном языках Код В1(УК-4)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Уметь: собирать, отбирать и использовать необходимые данные и эффективно применять количественные методы их анализа	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет

Фонды оценочных средств, необходимые для оценки результатов обучения

Примеры вопросов к промежуточному контролю (темы рефератов, вопросы для индивидуального собеседования):

1. Решение проблем таксономии гидробионтов с помощью молекулярных методов.
2. Использование молекулярных методов для восстановления родства.
3. Флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH) с олигонуклеотидными зондами, специфичными для определенных последовательностей рибосомальной РНК.
4. Специфические проблемы метода FISH в визуализации гибридизированных клеток (высокая фоновая флуоресценция, автофлуоресценция клеток неспецифическое связывание зонда с макромолекулами клетки, низкое содержание рибосом в клетках).
5. Различные способы изучения структуры и функционирования микробных сообществ.
6. ПЦР. Методы амплификации. Стадии ПЦР. Температура плавления и температура отжига. Подбор температуры отжига и праймеров. Вырожденные праймеры. Подбор температурно-временного профиля ПЦР реакции.
7. Этапы клонирования. Клонирование ПЦР продукта в векторе. Плазмиды. Типы и формы плазмид. Свойство плазмид в качестве вектора для клонирования фрагментов чужеродной ДНК.
8. Решение проблемы таксономии гидробионтов – построение филогенетического дерева, общий принцип дерева, основанного на сравнении малой рибосомальной единицы 16S рРНК. Сравнение с другими филогенетическими схемами.
9. Применение метода полимеразной цепной реакции в изучении филогенетического разнообразия гидробионтов в различных природных сообществах.
10. Исторические вехи развития молекулярной систематики как науки. Филогенез. Принципы филогенетических систем. Монофилетические, парафилетические, полифилетические группы. Графическое изображение.
11. Применение метода FISH в изучении филогенетического разнообразия гидробионтов в различных природных сообществах.
12. Использование различных флуоресцентных зондов в молекулярной идентификации гидробионтов FISH, ПЦР.
13. Преимуществ метода FISH по сравнению с молекулярными методами, основанными на принципе ПЦР.
14. Анализ существующих молекулярно-генетических методов для исследования видового разнообразия.

ПРОГРАММА

зачета по спецкурсу «Молекулярно-генетические методы в гидробиологии»

ВВЕДЕНИЕ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Введение в проблему: термины и определения. Систематика, таксономия, филогенез, филогенетические системы (цель и принципы), классификация, идентификация, таксон, номенклатура. Различия и сходство фенотипа от генотипа. Способы идентификации: фенотипический анализ (различные морфологические, физиологические и биохимические характеристики). Обзор основных молекулярно-генетических методов применяемых в гидробиологии. Нуклеотидный состав ДНК. ДНК-ДНК гибридизация. Общий принцип гибридизационного анализа, две модификации метода проведения реакции гибридизации. Ген, как модельный объект изучения генетического сходства.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА FISH ГИБРИДИЗАЦИИ НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ ТАКСОНОМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

Принцип метода флуоресцентной *in situ* гибридизация (FISH). Схема. Способы изучения структуры и функционирования микробных сообществ. Использование Молекулярные зонды (не филогенетика и таксономия). Технология генных зондов (конструирование зонда, подготовка образца, проведение реакции гибридизации зонда и образца и обнаружение гибридов). Метод FISH с флуоресцентно-мечеными 16S рРНК-специфичными олигонуклеотидными зондами. Этапы проведения исследования по методу FISH (обработка образца фиксирующим агентом (спирт, формалин)). Гибридизация (отжиг зонда с последовательностью молекулы-мишени). Подбор оптимизированных условий для проведения гибридизации (проводиться в строго оптимизированных условиях). Концентрации формамида, состав гибридизационного буфера, температуры гибридизации. Отмывка в промывном буферном растворе. Визуализации гибридизированных образцов с помощью флуоресцентного микроскопа. Анализ полученных экспериментальных результатов.

МЕТОД ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ (ПЦР)

История и применение ПЦР. Выбор культур (образцов) для идентификации. История происхождения данного образца. Идентификация образцов с помощью светового микроскопа.

Выделение ДНК разными методами. Электрофорез: принцип метода. Ознакомление с приборами и реактивами для электрофореза (электрофорезная ванночка, источник напряжения, трансиллюминатор, набор реагентов для приготовления геля). Приготовление растворов для электрофореза. Визуализация полученного материала на трансиллюминаторе. История и применение ПЦР. Метод ПЦР: основные циклы, taq-полимераза, температуры отжига, подбор концентрации ионов магния, состав реакционной смеси. Подбор праймеров для амплификации выбранных генов. Визуализация продуктов ПЦР и интерпретация полученных результатов. Отбор и сдача образцов для секвенирования. Компания «Геном».

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ СЕКВЕНИРОВАННЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ОЗНАКОМЛЕНИЕ С РАБОТОЙ NCBI. ПОСТРОЕНИЕ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ ДЕРЕВЬЕВ

Ознакомление с банком нуклеотидных последовательностей <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> Обсуждение полученных секвенированных последовательностей. Работа в программе BioEdit, МЕГА 7.0. Построение филогенетического дерева по полученной нуклеотидной последовательности фрагмента малой субъединицы рибосомальной рРНК. Вопросы и ответы.